

**PROFIL FERMENTASI SUKROSA MENJADI SORBITOL
OLEH *Zymomonas mobilis* DENGAN PENAMBAHAN
KATION LOGAM ZN^{2+}**

**OLEH:
TETA MUMTAZ KURNIASARI
NRP: 1409201009**

**DOSEN PEMBIMBING:
Prof. Dr. SURYA ROSA PUTRA
NIP. 196309281988031001**

PENDAHULUAN

Zymomonas mobilis

Menempuh jalur Etner- Doudoroff (ED)

glukosa

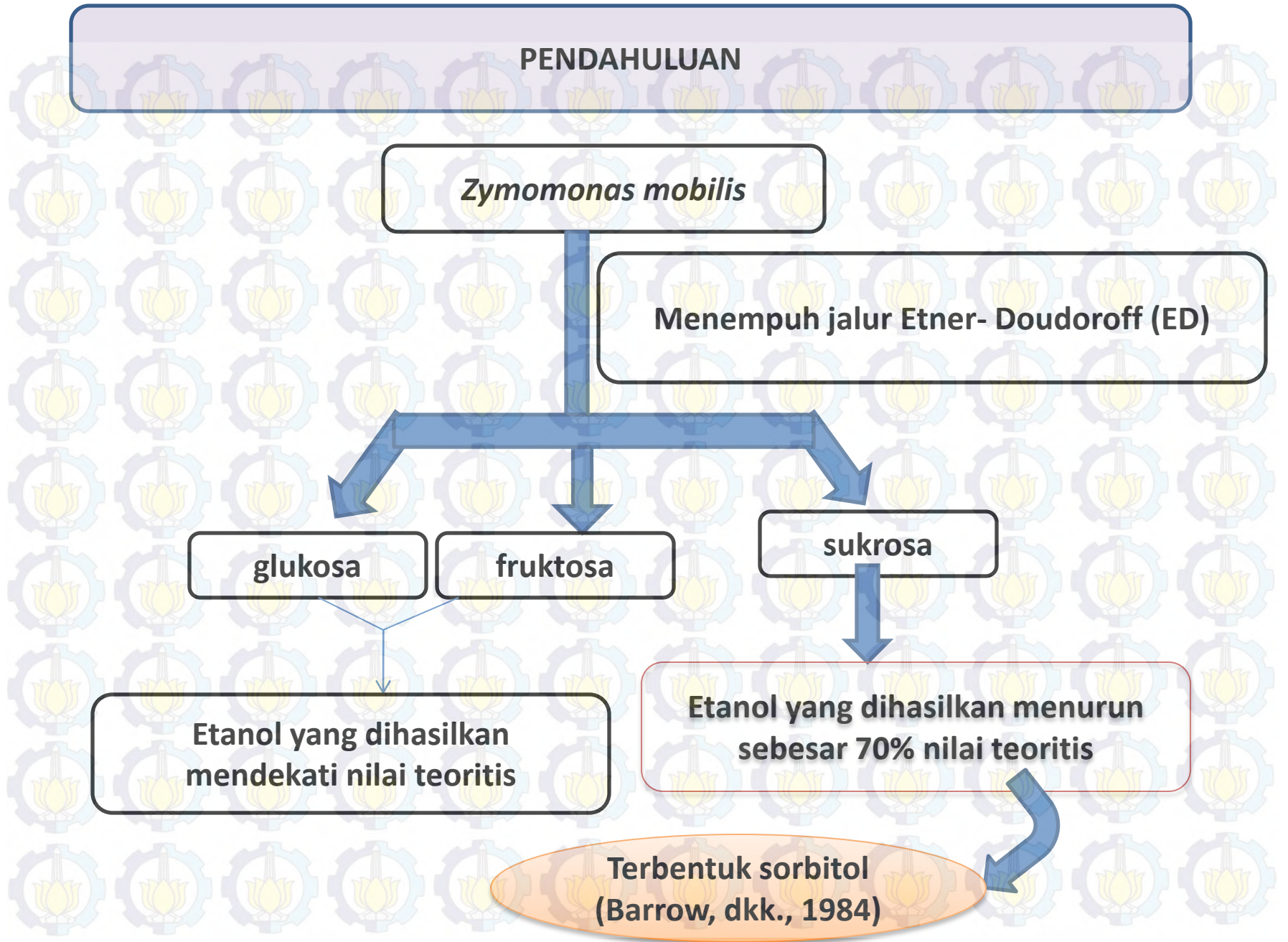
fruktosa

sukrosa

Etanol yang dihasilkan
mendekati nilai teoritis

Etanol yang dihasilkan menurun
sebesar 70% nilai teoritis

Terbentuk sorbitol
(Barrow, dkk., 1984)



SUKROSA

Zymomonas mobilis

PRODUK
SAMPING
LAINNYA

SORBITOL

ETANOL

- (1) glukokinase
- (2) fruktokinase
- (3) 6-P-glukosa isomerase
- (4) 6-P-glukosa dehidrogenase
- (5) 6-P-glukonolaktanase
- (6) 6-P-dehidratase
- (7) 2-keto-3-deoksi-6-P-glukonat aldolase
- (8) 3-P-gliseralehid dehidrogenase
- (9) Fosfoglisarat kinase
- (10) fosfoglisarat mutase
- (11) enolase
- (12) piruvat kinase
- (13) piruvat dekarboksilase
- (14) alkohol dehidrogenase

Zn^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} ,
 Co^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Ag^{2+} ,
 Be^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{2+} , Hg^{2+} ,
 Li^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} ,
 Zr^{2+} dan Sr^{2+} (Chang,
dkk., 2009)

Zn^{2+}
($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
EFEK PALING BESAR

Efek penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ terhadap pembentukan etanol dan sorbitol baru diteliti pada *Z. mobilis* rekombinan (Liu, dkk., 2010)

PERMASALAHAN

Zymomonas mobilis galur liar koleksi laboratorium biokimia ITS baru diteliti profil produksi etanolnya pada berbagai substrat. Etanol merupakan produk utama dari *Z. mobilis* sedangkan pengendalian metabolisme sukrosa ke arah sorbitol belum diteliti. Penelitian ini akan meneliti profil produksi sorbitol oleh *Z. mobilis* akibat penambahan ion logam divalen Zn^{2+} dalam bentuk $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ terhadap substrat sukrosa.

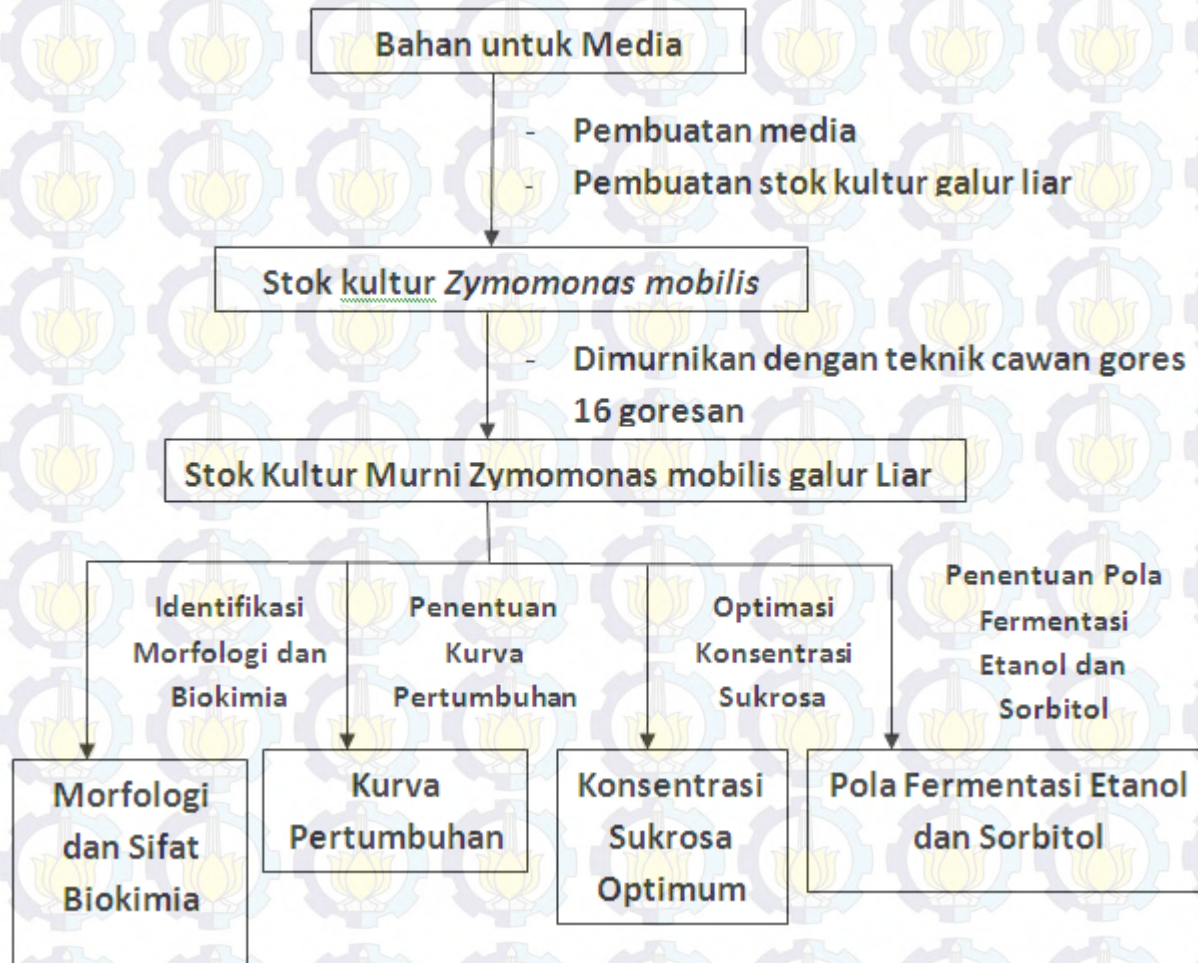
TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk melengkapi profil fermentasi *Zymomonas mobilis* galur liar koleksi laboratorium biokimia ITS dan mengendalikan metabolisme sukrosa oleh *Zymomonas mobilis* dengan penambahan kation logam divalen Zn^{2+} dalam bentuk $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

MANFAAT

- 1) Hasil penelitian ini dapat melengkapi profil fermentasi *Zymomonas mobilis* galur liar koleksi laboratorium biokimia ITS dan menghasilkan sorbitol.
- 2) Manfaat aplikatif yakni untuk mengoptimalkan fermentasi sorbitol.

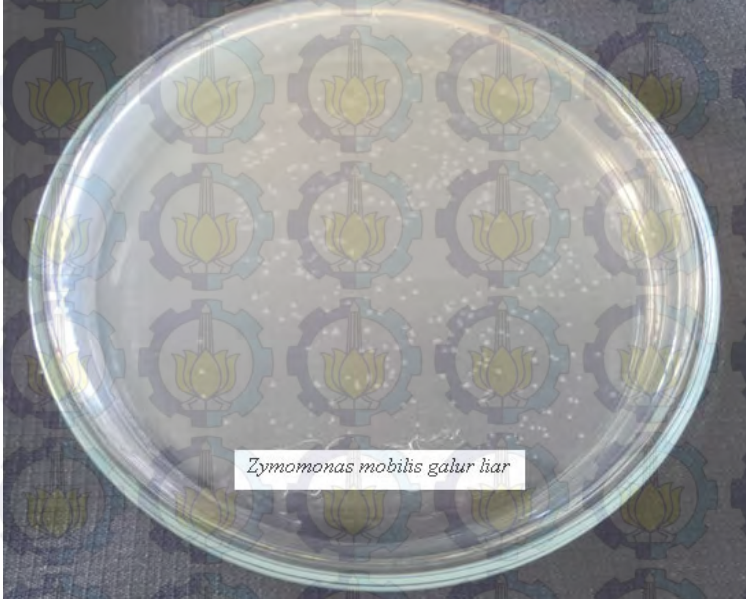
ALUR KERJA





HASIL DAN PEMBAHASAN

MORFOLOGI *Zymomonas mobilis* GALUR LIAR



Koloni *Zymomonas mobilis* galur liar :

Ukuran	: kecil
Bentuk	: bulat (circular)
Tepi koloni	: utuh (regular)
Kenaikan permukaan	: conveks
Halus kasarnya permukaan	: halus
Wajah permukaan	: mengkilat
Warna	: putih
Kepekatan	: lunak

SIFAT BIOKIMIA *Zymomonas mobilis* GALUR LIAR (1)

No	Uji	Hasil	keterangan
1	pewarnaan gram	bakteri berbentuk batang berwarna merah	<i>Zymomonas mobilis</i> merupakan bakteri berbentuk batang dan termasuk bakteri gram negatif
2	pewarnaan spora	sel berwarna merah tanpa ada bagian yang berwarna hijau	<i>Z. mobilis</i> tidak membentuk spora
3	uji motilitas	bakteri tumbuh di sepanjang bekas tusukan dan terpekat dipermukaan agar	<i>Z. mobilis</i> galur liar ini termasuk <i>Z. mobilis</i> yang bersifat motil
4	uji pembentukan H ₂ S	tidak terdapat endapan hitam pada media SIM	<i>Z. mobilis</i> galur liar ini termasuk <i>Z. mobilis</i> yang tidak menghasilkan enzim sistein desulfhydrase sehingga tidak mampu melepas sistein dari gugus sulfhydril dan gugus aminonya.

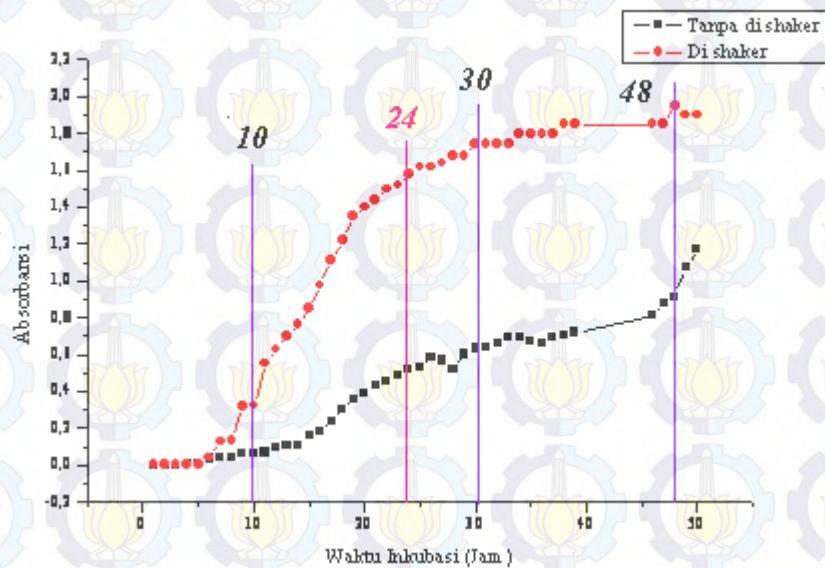
SIFAT BIOKIMIA *Zymomonas mobilis* GALUR LIAR (2)

5	uji kebutuhan oksigen	bakteri tumbuh disepanjang medium thioglycollate agar	<i>Z. mobilis</i> merupakan bakteri anaerob fakultatif
6	uji fermentasi karbohidrat	bakteri tumbuh dan menghasilkan gas pada medium sukrosa dan glukosa tapi tidak tumbuh maupun menfermentasi laktosa dan mannitol	<i>Z. mobilis</i> dapat tumbuh dan menfermentasi glukosa dan sukrosa tetapi tidak dapat tumbuh maupun menfermentasi laktosa maupun mannitol
7	uji pembentukan indol	tidak terdapat cincin merah, reagen kovac yang ditambahkan tetap berwarna hijau	<i>Z. mobilis</i> tidak menghasilkan enzim triptophanase sehingga tidak mampu menghidrolisis triptopan menjadi indol.
8	uji oksidase	tidak terjadi perubahan warna	<i>Z. mobilis</i> tidak memiliki sitokrom C (hasil negatif)

SIFAT BIOKIMIA *Zymomonas mobilis* GALUR LIAR (3)

9	uji katalase	timbul buih pada preparat ulas yang ditetesi hidrogen peroksida 3 %	<i>Z. mobilis</i> memiliki enzim katalase (hasil positif)
10	uji metil merah	tetap berwarna kuning	<i>Z. mobilis</i> bukan bakteri penghasil asam dalam jumlah besar (hasil negatif pH=7)
11	uji voges-proskauer	berubah menjadi berwarna merah	<i>Z. mobilis</i> galur liar jepang termasuk <i>Z. mobilis</i> yang menghasilkan acetoin yang merupakan prekursor dari 2,3-butanediol.

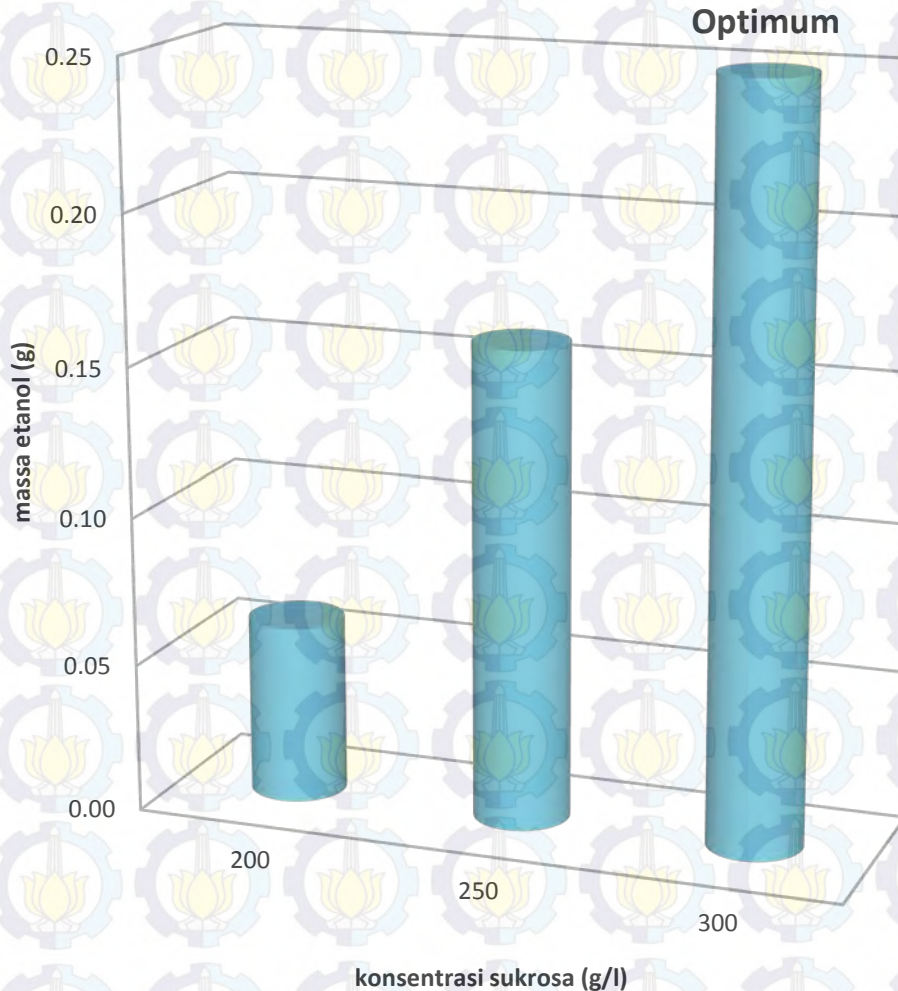
KURVA PERTUMBUHAN *Zymomonas mobilis* galur liar



Pengambilan biomassa untuk proses fermentasi dilakukan pada jam ke-24

fase pertumbuhan bakteri	Diaerasi	Tanpa diaerasi
	pada jam ke-	
fase lag	0-5	0-5
Fase pertumbuhan awal	6-8	6-14
fase eksponensial (fase log)	9-29	15- 50
fase stasioner	30-48	-
fase kematian	49 ke atas	-

PENENTUAN KONSENTRASI OPTIMUM PADA MEDIUM FERMENTASI



- Etanol paling banyak terbentuk pada konsentrasi sukrosa 300 g/l
- Konsentrasi sukrosa 300 g/l dipilih sebagai konsentrasi sukrosa medium fermentasi yang akan di variasi antara kontrol dan penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebesar 1,0 g/l
- Tujuan: penambahan Zn menghambat pembentukan etanol dan mengarahkan ke pembentukan sorbitol
- Harapan: digunakan konsentrasi sukrosa dimana etanol yang dihasilkan paling besar agar sorbitol yang dihasilkan dengan penambahan Zn akan lebih besar daripada dalam medium kontrol

POLA FERMENTASI ETANOL PADA MEDIUM KONTROL DAN SAMPEL

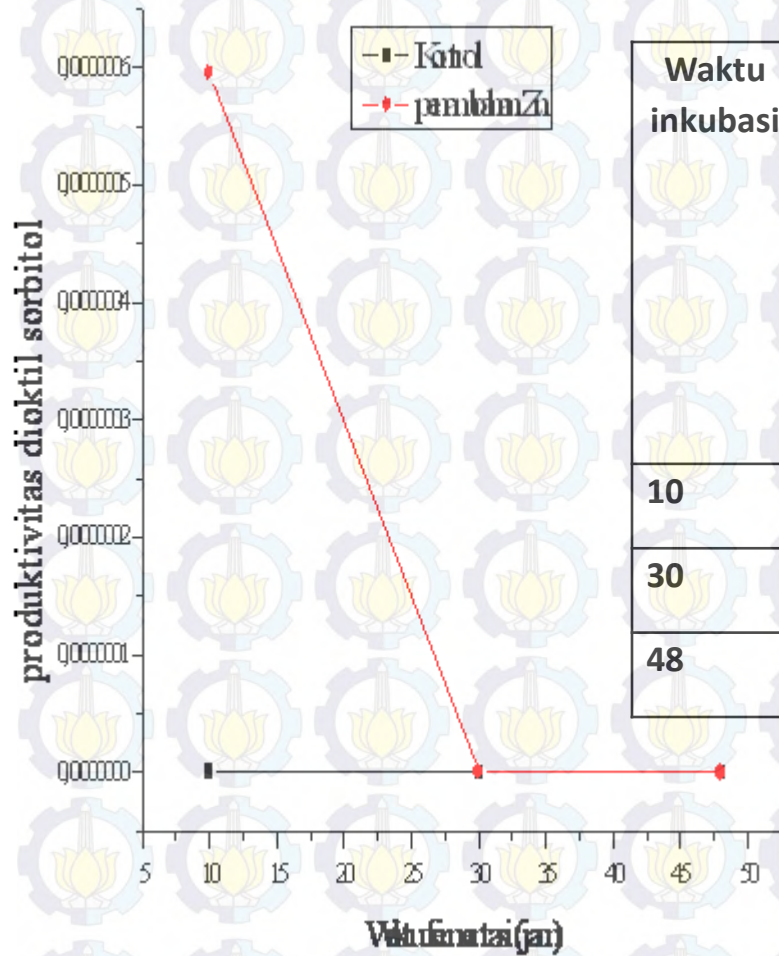
Waktu fermentasi	Yield g etanol/g glukosa		Jumlah biomassa		Yield (%)	
	KONTROL	SAMPEL	KONTROL	SAMPEL	KONTROL	SAMPEL
10	0,08	0,25	$1,2 \times 10^8$	$1,4 \times 10^5$	16,06	50,92
30	0,18	0,05	$2,3 \times 10^8$	$2,8 \times 10^7$	35,91	10,49
48	0,4	0,05	$4,2 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$	79,04	9,41

Ket: kontrol : medium tanpa penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

sampel: medium dengan penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebesar 1,0 g/l

Penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebesar 1,0 g/l menurunkan etanol yang dihasilkan sesuai dengan hipotesis bahwa dengan penambahan Zn akan menghambat pembentukan etanol.

POLA FERMENTASI DIOKTIL SORBITOL

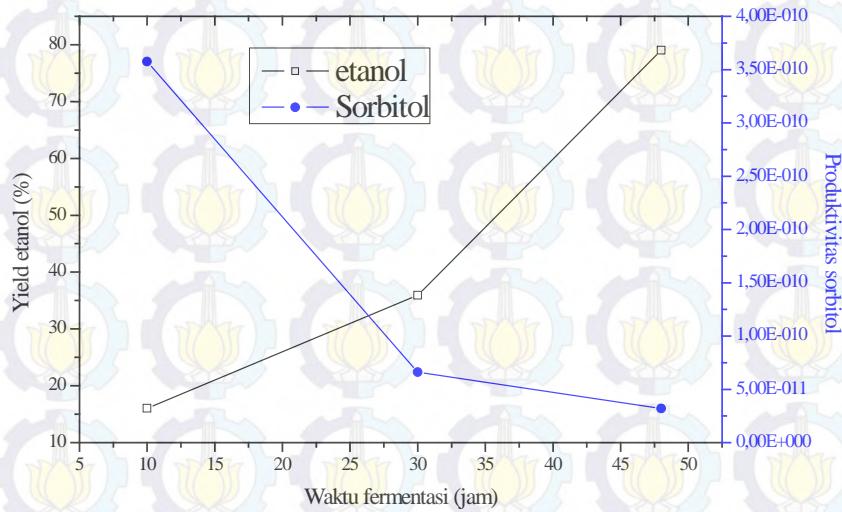


Waktu inkubasi	% area dioktil sorbitol terhadap total		Jumlah bakteri		Produktivitas (% dioktil sorbitol/sel/jam)	
	Kontro I	Sampe I	Kontrol (x10 ⁸)	Sampel (x10 ⁷)	Kontrol (x10 ⁻¹⁰)	Sampel (x10 ⁻¹⁰)
10	0,429	0,833	1,2	0,01	3,6	5960
30	0,458	0,33	2,3	2,8	0,7	3,9
48	0,654	0,51	4,2	9	0,3	1,2

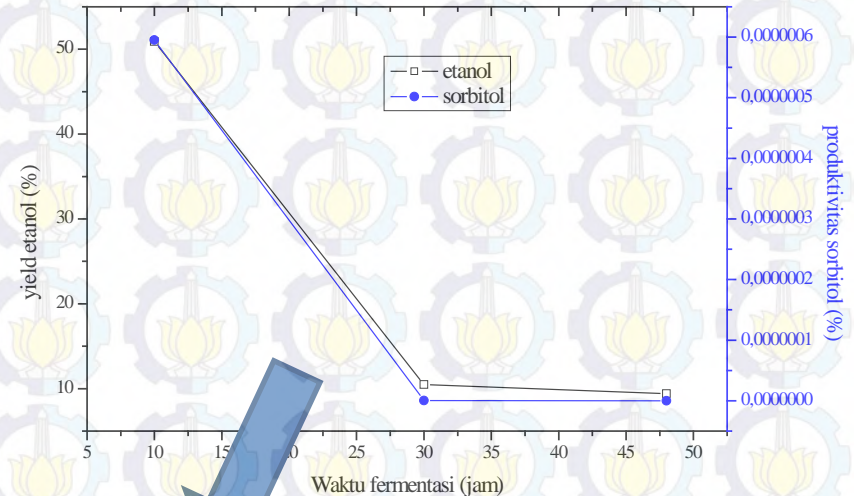
Penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebesar 1,0 g/l terbukti mampu memperbesar dioktil sorbitol yang dihasilkan.

POLA FERMENTASI ETANOL DAN DIOKIL SORBITOL PADA MEDIUM KONTROL DAN SAMPEL

KONTROL



SAMPEL



KONTROL

SAMPEL

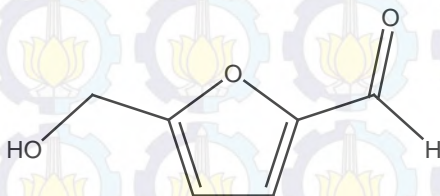


Sorbitol maupun etanol yang dihasilkan semakin menurun seiring bertambahnya waktu inkubasi sehingga diperkirakan terbentuk levan yang jumlahnya semakin meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi.

SENYAWA YANG TERIDENTIFIKASI DALAM KROMATOGRAM GC-MS

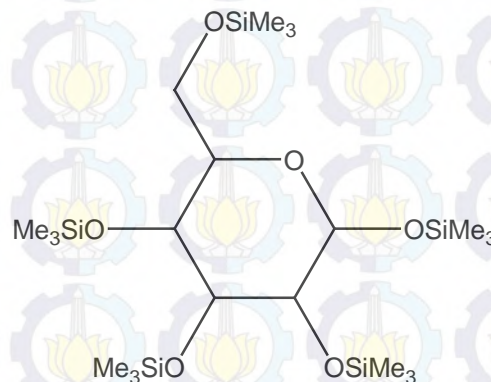
No	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa
1	5,6	5-hidroksimetilfurfural (HMF)
2	21,3	1,2,3,4,6-pentakis-o-trimetilsilil glucopyranose
3	22,3	1,1-C-dioktil-2,3,4,6-tetra-o-trimetilsilil sorbitol

1



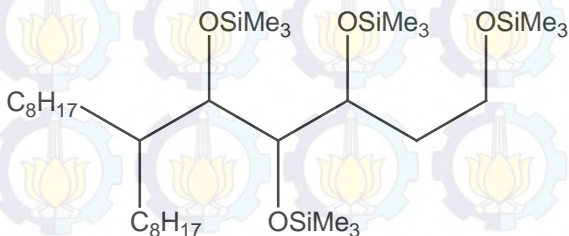
Merupakan sisa glukosa yang terdegradasi akibat reaksi maillard

2



Merupakan sisa glukosa yang terderivatisasi

3

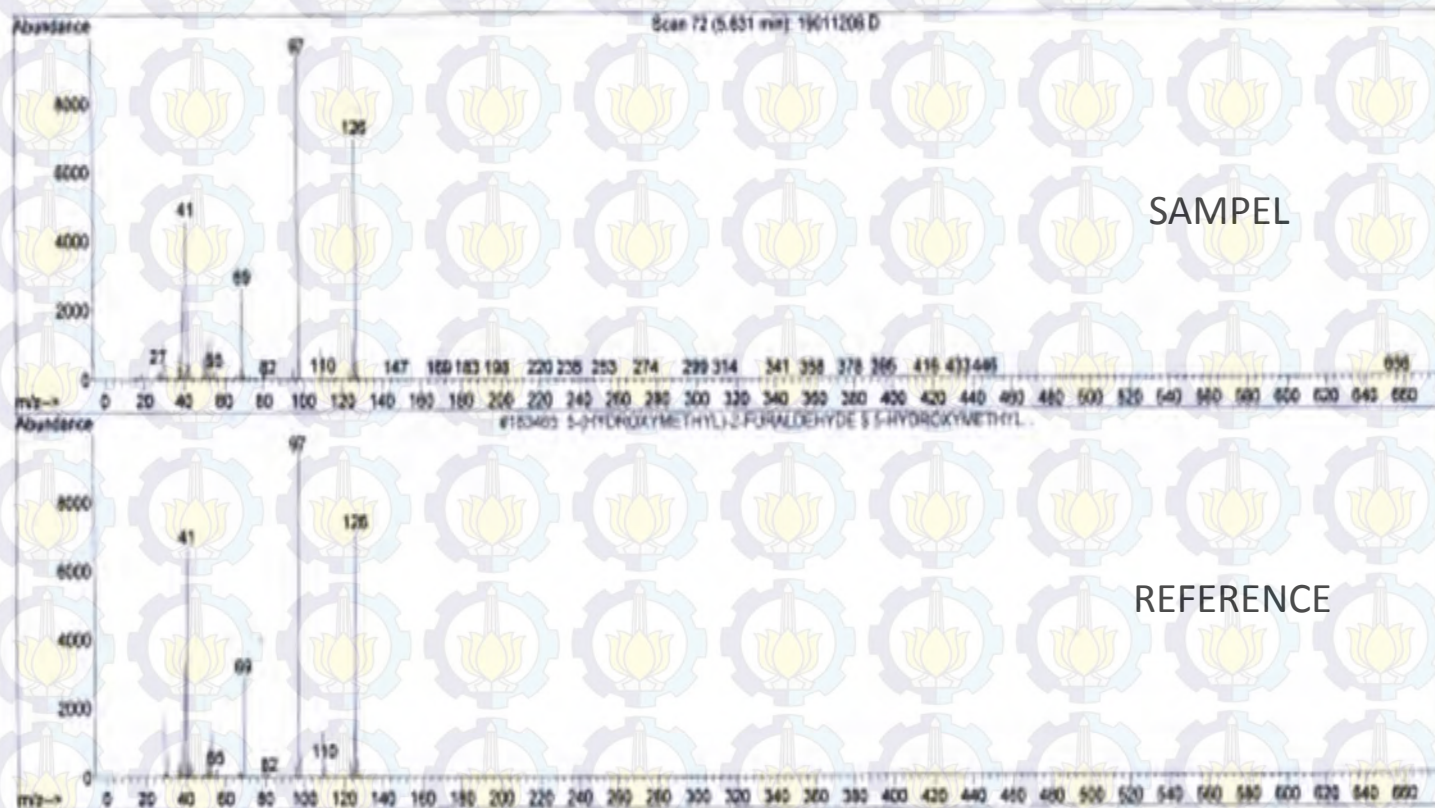


Merupakan 1,1-dioktil sorbitol yang terderivatisasi

KROMATOGRAM 5-HIDROKSIMETILFURFURAL

94%

Library Searched : C:\Database\W8N0557.L
Quality : 94
ID : 5-(HYDROXYMETHYL)-2-FURALDEHYDE & 5-HYDROXYMETHYL-FURAN-2-CARBALDEHYDE

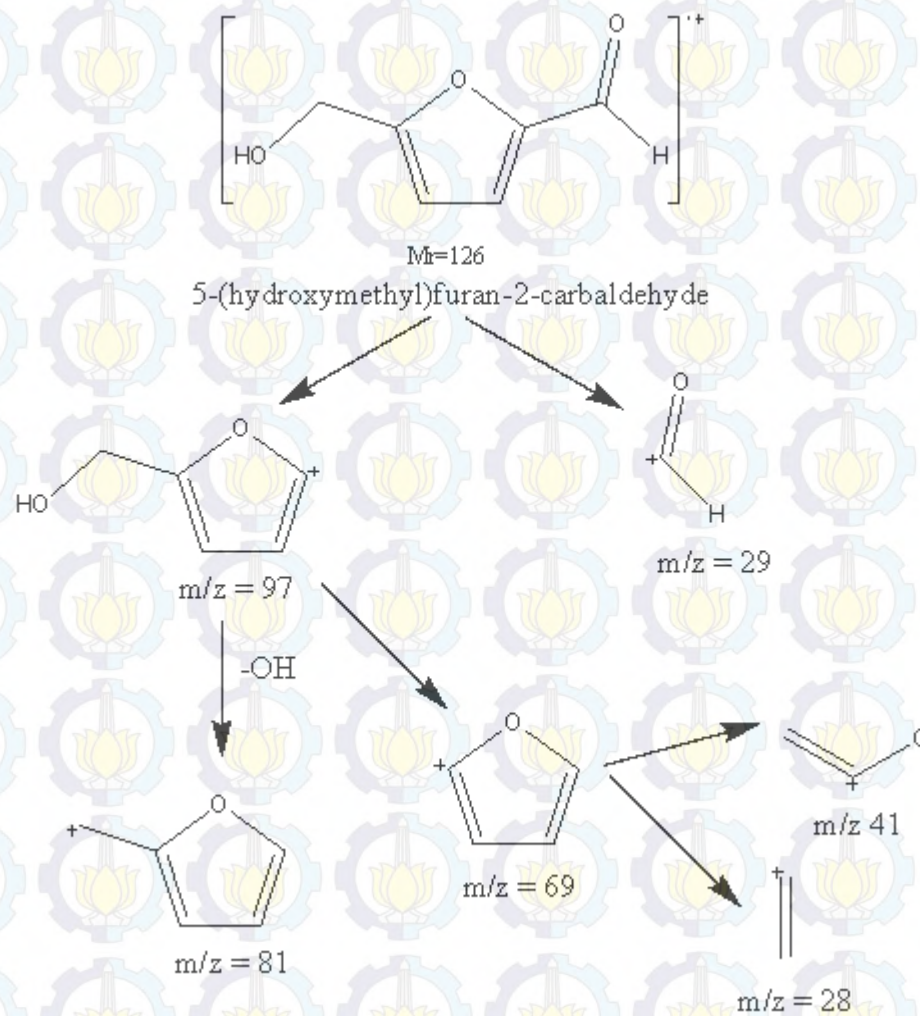


SAMPEL

REFERENCE

$m/z = 27, 41, 55, 69, 82, 97, 126$

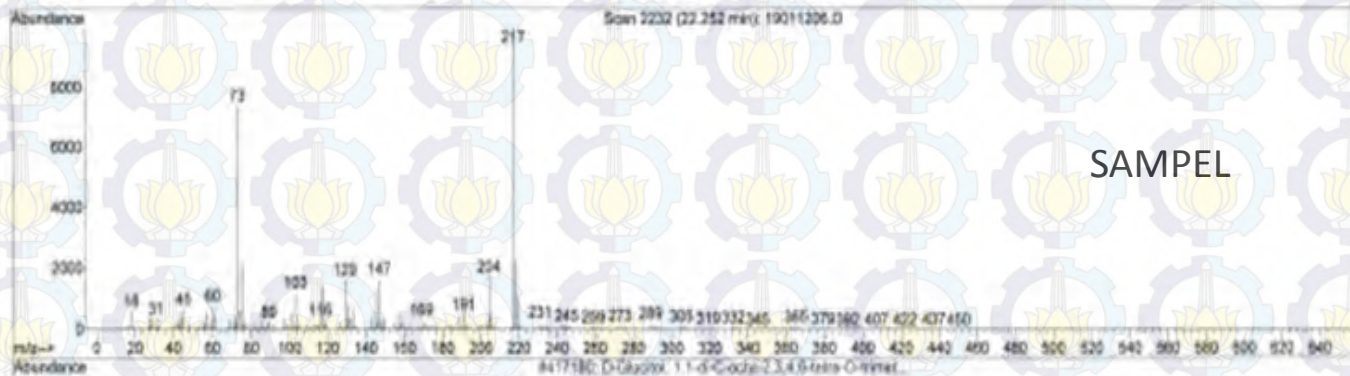
POLA FRAGMENTASI 5-HIDROKSIMETILFURFURAL



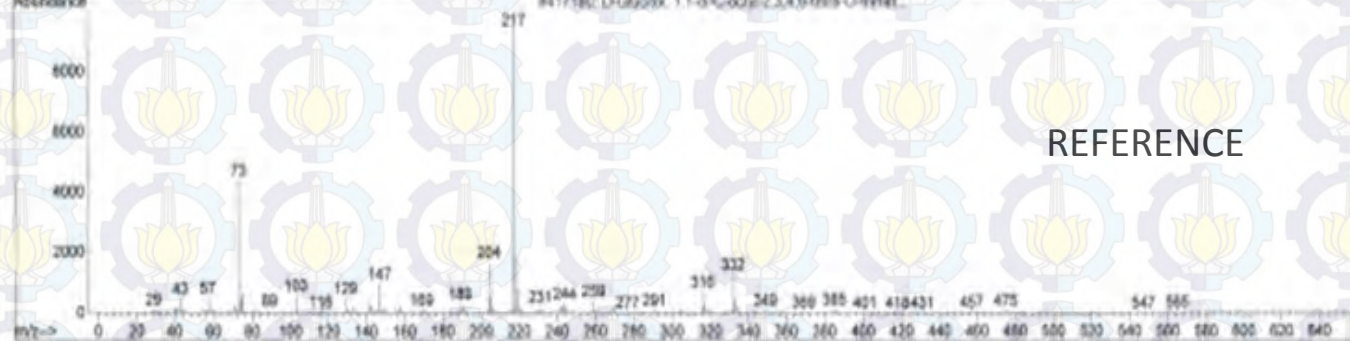
KROMATOGRAM DIOKTIL SORBITOL

86%

Library Searched : C:\Database\N8N05ST.1.
Quality : 86
ID : D-Glucitol, 1,1-di-C-octyl-2,3,4,6-tetra-O-trimethylsilyl-



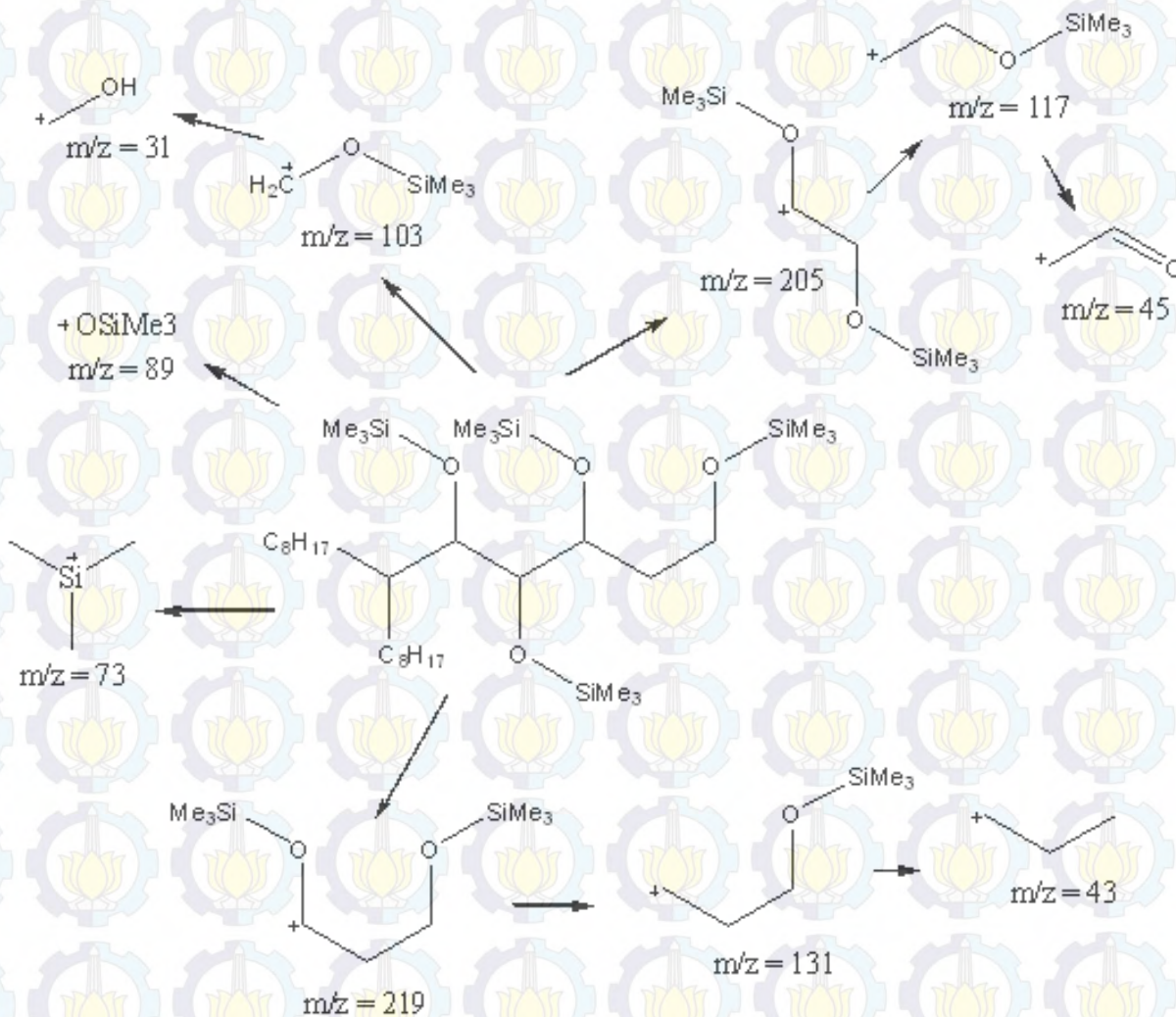
SAMPEL



REFERENCE

m/z= 73, 89, 103, 116, 129, 147, 169, 204, 217, 231, 332

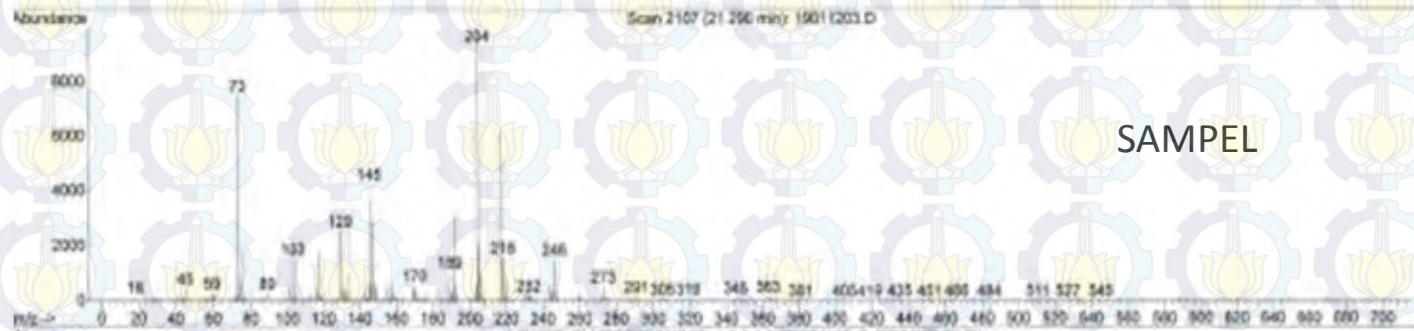
POLA FRAGMENTASI DIOKTILO SORBITOL



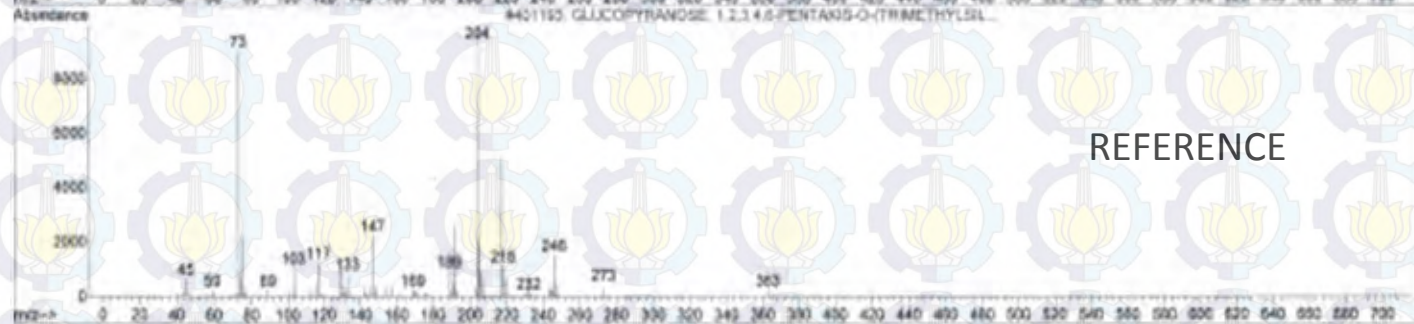
KROMATOGRAM GLUCOPYRANOSE

89%

Library Searched : C:\Database\W8N05SE.L
Quality : 89
ID : GLUCOPYRANOSE, 1,2,3,4,6-PENTAKIS-O-(TRIMETHYLSILYL)-, D- & 1,2,3,4,6-PENTAKIS-O-(TRIMETHYLSILYL)HEXOPYRANOSE & 1,2,3,4,6-PENTAKIS-O-(TRIMETHYLSILYL)HEXOPYRANOSE & 1,2,3,4,6-PENTAKIS-O-(TRIMETHYLSILYL)HEXOPYRANOSE (COMPUTER-GENERATED NAME) & D-GLUCOPYRANOSE



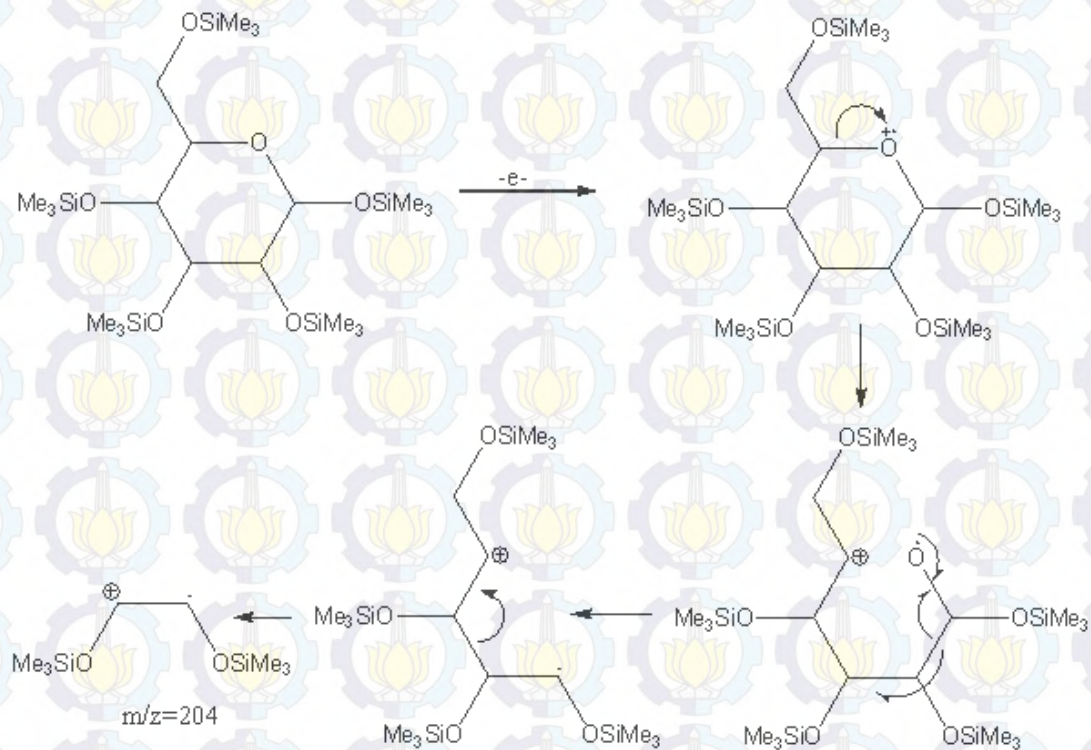
SAMPEL



REFERENCE

m/z= 45, 59, 73, 89, 103, 129, 145, 170, 189, 204, 218, 232, 246, 273, 363

POLA FRAGMENTASI β -D-GLUCOPYRANOSE





KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

- 1) Laju pembentukan dioktil sorbitol pada medium kontrol berlawanan dengan pola pembentukan etanol. Jumlah dioktil sorbitol semakin menurun dengan bertambahnya waktu fermentasi sedangkan jumlah etanol yang dihasilkan semakin meningkat dengan bertambahnya waktu fermentasi.
- 2) Laju pembentukan dioktil sorbitol pada medium dengan penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1,0 g/l sejalan dengan laju pembentukan etanol. Etanol yang dihasilkan semakin menurun dengan bertambahnya waktu inkubasi begitu juga dengan dioktil sorbitol yang dihasilkan. Hal ini diduga disebabkan terjadinya pembentukan levan yang meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi.
- 3) Penambahan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1,0 g/l mampu menghambat pembentukan etanol dan memperbesar dioktil sorbitol yang dihasilkan.

SARAN

- 1) Masih perlunya penelitian lebih lanjut tentang asal pembentukan dioktil sorbitol di dalam proses fermentasi sukrosa oleh *Z. mobilis* galur liar.
- 2) Masih perlunya uji levan di dalam supernatan hasil fermentasi.
- 3) Masih perlu dilakukan proses optimasi di dalam proses analisa sorbitol sehingga tidak terjadi reaksi samping seperti reaksi maillard.

The background of the slide is a repeating pattern of lotus flowers inside gears. The lotus flowers are yellow with green outlines, and the gears are light blue. The pattern is arranged in a grid. In the center of the slide, there is a purple rounded rectangle with a dark blue border. Inside this rectangle, the word "TERIMA KASIH" is written in a bold, black, sans-serif font.

TERIMA KASIH